

REFERENCE B07

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2001-513368

(P2001-513368A)

(43) 公表日 平成13年9月4日 (2001.9.4)

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	チーコード (参考)
A 6 1 L 27/00		A 6 1 L 27/00	U 4 C 0 8 1
C 0 8 G 65/00		C 0 8 G 65/00	4 J 0 0 5
85/00		85/00	4 J 0 3 1

審査請求 有 予備審査請求 有 (全 24 頁)

(21) 出願番号 特願2000-507003(P2000-507003)
 (86) (22) 出願日 平成10年8月6日(1998.8.6)
 (85) 優先文提出日 平成12年2月4日(2000.2.4)
 (86) 国際出願番号 PCT/US98/16410
 (87) 国際公開番号 WO99/07417
 (87) 国際公開日 平成11年2月18日(1999.2.18)
 (31) 優先権主張番号 60/054, 849
 (32) 優先日 平成9年8月6日(1997.8.6)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (81) 指定国 EP (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), AU, CA, JP

(71) 出願人 フォーカル、インコーポレイテッド
 Focal, Inc.
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ
 02173, レキシントン, マギアード 4
 (72) 発明者 コウリー, アーサー ジェイ.
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ
 02118, ボストン, ワレン アベニュー 154
 (74) 代理人 弁理士 山本 秀策

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 止血性組織シーラント

(57) 【要約】

組織シーラント組成物中に止血剤を適用することによる止血を制御する方法。本組織シーラントは、本質的に強力な止血特性を有する可能性がない生分解性生体適合性合成ポリマーである。本組織シーラント中への止血性材料の封入は、その部位での出血を制御し得、組織へのシーラントの改良された付着もまた提供し得、より短い治癒時間を提供し得る。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 止血性組織シーラントであって、以下：

医学的に受容可能な時間で組織からの血流を止めるために有効な量の止血剤を組み込まれた生体適合性生分解性ヒドロゲル組織シーラント、を含む、止血性組織シーラント。

【請求項2】 前記止血剤が、凝固因子、凝固開始剤、血小板活性化剤、血管収縮剤、およびフィブリン溶解インヒビターからなる群から選択される、請求項1に記載の止血性組織シーラント。

【請求項3】 前記止血剤が、エピネフリン、アドレノクロム、コラーゲン、トロンビン、フィブリン、フィブリノーゲン、酸化されたセルロース、およびキトサンからなる群から選択される、請求項1に記載の止血性組織シーラント。

【請求項4】 前記ヒドロゲル組織シーラントが、架橋可能基、親水性領域、および生分解性領域を含む、架橋可能材料から形成される、請求項1に記載の止血性組織シーラント。

【請求項5】 前記架橋可能材料が、フリーラジカルにより開始される重合によって共有結合的に架橋する、請求項4に記載の止血性組織シーラント。

【請求項6】 前記架橋可能材料が自己架橋して封鎖を形成する、請求項1に記載の止血性組織シーラント。

【請求項7】 前記架橋可能材料が、1つ以上の重合開始剤の適用によって架橋される、請求項4に記載の止血性組織シーラント。

【請求項8】 前記1つ以上の重合開始剤が、酸化剤、熱、および光を含む、請求項7に記載の止血性組織シーラント。

【請求項9】 前記ヒドロゲルが光重合性ゲルである、請求項1に記載の止血性組織シーラント。

【請求項10】 前記架橋可能材料が、フリーラジカルにより開始される重合によって共有結合的に架橋する、請求項4に記載の止血性組織シーラント。

【請求項11】 前記親水性領域がポリエチレングリコールを包含し、前記架橋可能基が炭化水素不飽和基を包含し、前記生分解性領域がポリ（ヒドロキシ酸）を包含する、請求項4に記載の止血性組織シーラント。

【請求項12】 架橋された場合に組織シーラントとして機能する生分解性生体適合性架橋可能材料を含有し、医学的に受容可能な時間で組織表面からの血流を止めるために十分な量の止血剤を組み込んだ、止血性組織シーラント組成物。

【請求項13】 組織表面で止血性シーラントを形成するための方法であって、以下：

請求項12、15、17、または18のいずれかに記載の止血性シーラント組成物を、該組織表面に適用する工程；および

架橋可能基を架橋する工程、
を包含する、方法。

【請求項14】 前記架橋可能材料が、架橋可能基、親水性領域、および生分解性領域を含む、請求項13に記載の方法。

【請求項15】 前記親水性領域がポリエチレングリコールを包含し、前記架橋可能基が炭化水素不飽和基を包含し、前記生分解性領域がポリ（ヒドロキシ酸）を包含する、請求項12に記載の組成物。

【請求項16】 前記止血性シーラント組成物の適用前に、前記組織表面に開始剤プライマーを適用する工程をさらに包含する、請求項13に記載の方法。

【請求項17】 前記止血剤が、凝固因子、凝固開始剤、血小板活性化剤、血管収縮剤、およびフィブリン溶解インヒビターからなる群から選択される、請求項12に記載の組成物。

【請求項18】 前記止血剤が、エビネフリン、アドレノクロム、コラーゲン、トロンビン、フィブリン、フィブリノーゲン、酸化されたセルロース、およびキトサンからなる群から選択される、請求項12に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

(発明の分野)

本発明は、組織シーラント、特に止血活性を有する組織シーラントの分野である。

【0002】

(関連出願の引用)

米国仮特許出願番号第60/054,849号(1997年8月6日出願)に対する優先権を主張する。

【0003】

(発明の背景)

組織シーラントは、組織からまたは組織への体液(fluid)の移動を減少または防止するために使用される。組織シーラントとして使用されている周知の材料には「フィブリン接着剤」があり、これは、典型的には、血液タンパク質フィブリノーゲンの溶液または懸濁液と、酵素またはフィブリンを架橋させる他の試薬とを接触させることによって生成される。典型的には、酵素トロンビンが使用され、これは、特定の点でフィブリノーゲン分子を切断してフィブリンモノマーを形成し、次いでこれは自発的に架橋する。これは、血餅の形成に関与する自然反応である。架橋されたフィブリンベースの材料のよく知られた例には、痂皮または焼痂がある。フィブリン接着剤の不利な点は、一旦これらの堆積が完了すると、これらがほとんど可撓性または拡張性を有さないということである。さらに、フィブリンは、非制御パラメーターの数に依存して、可変性の時間量で生分解され得、フィブリンベースの組織シーラントの持続時間は、予測可能でない。組織へのフィブリン凝塊の付着はまた、予測不可能であり得る。

【0004】

PCT/US96/03834に記載されるように、高レベルの組織付着、弾性の適応性、および制御された生分解性を示す組織シーラントを生成するために、合成材料が使用され得る。さらに、これらの合成シーラントは、ウイルス性または他の生物学的な害を完全に有さない。しかし、合成シーラントは有意な固有

の止血特性を有さない可能性がある。これらの特性は、組織へのその適用より前または同時に、1つ以上のシーラント組成物の成分へ止血性材料を組み込むことによって、ここでは提供される。

【0005】

(発明の要旨)

組織シーラント組成物中に止血剤を適用することによって止血を制御する方法を記載する。この組織シーラントは強力な止血特性を本質的に有さない可能性がある生分解性生体適合性合成ポリマーである。この組織シーラント中への止血材料の封入は、その部位での出血を制御し得、組織へのシーラントの改良された付着もまた提供し得、より短い治療時間を提供し得る。

【0006】

好ましい実施態様では、本組織シーラントは、親水性部分を有しかつ架橋可能基を含む架橋可能材料から形成されるヒドロゲルである。止血剤は、止血が防止されることが所望される組織の領域に適用される架橋可能材料に組み込まれ得る。次いで、この架橋可能材料は、組織を封鎖するヒドロゲルに形成される。

【0007】

(発明の詳細な説明)

本明細書中に記載される材料は、組織シーラントを形成し、さらに止血性材料（これは本明細書以下「止血物質」とまた称される）を組み込むのに適切な架橋可能分子を包含する。広範で種々の止血物質が、それらが架橋材料の形成に干渉せずかつそれ自身架橋可能材料への曝露後に依然作用し得るという条件で、有用であり得る。この架橋シーラント材料は、生体適合性生分解性であり、体液（空気を含む）の漏出に対して組織または器官を封鎖する能力を有する。

【0008】

好ましい実施態様では、架橋材料は、組織に付着するヒドロゲルである。1つの好ましい実施態様では、止血物質は、開始剤を下塗りされた（prime）組織に適用されるシーラントと組み合わせて使用される。本組成物は、他の試薬（追加の生物学的に活性な材料）を含み得る。

【0009】

(定義)

「シーラント」は、組織からまたは組織への体液の移動を減少または防止する材料である。シーラントは、典型的には、組織に適用され、次いで局所的に架橋されるかまたはそうでなければ処理される。同じ材料はまた、構造または組織と一緒に付着するために、それらの間に適用され架橋されるかまたは処理される場合、あるいは組織および／またはデバイスの接合部を入れるために使用される場合のいずれかに、使用され得る。

【0010】

「架橋」は、一般的に、任意の物理的または化学的手段によって構造を形成するための小さな要素の接合を示すために使用される。他に述べていなければ、用語「重合」および「ゲル」は、「架橋」の機能的等価物である。

【0011】

本発明の材料およびデバイスの状況において、「生体適合性」とは、インプラントまたはコーティングに対する重篤な永続的または増加する生物学的応答の刺激がないことであり、手術または生体への外来物体の移植に典型的に伴う軽い炎症とは区別される。

【0012】

本発明の材料およびデバイスの状況において、「生分解性」とは、哺乳動物生物体または生組織に通常存在する条件下で代謝または排泄される要素内へのインプラントの予測可能な崩壊である。

【0013】

「止血物質」または「止血性」は、血流を止める（これには血漿流を止めることも含まれ得る）性質を有する材料を示す。止血物質または止血性材料は、さらに記載されるいくつかの機構のいずれかによって働き得る。

【0014】

「水溶性」は、水または水性溶液に少なくとも1重量%可溶性の材料を示す。

【0015】

(ポリマー組成物)

止血性シーラントは、架橋した物質、好ましくはヒドロゲルから形成され、そ

の中に止血剤が組み込まれる。ヒドロゲルは架橋可能物質（モノマー）から形成され、これは架橋可能基、親水性ポリマー領域、および好ましくは、生分解性領域または結合を含む。このヒドロゲルは、組織への付与の前に、またはその組織への付与後に、形成され（架橋され）得る。

【0016】

好ましい実施態様において、ヒドロゲルは、生分解性の、重合可能の、高分子量のモノマー（マクロマー）から形成され、これは、コア、そのコアの各末端上の伸長部分、および各伸長部分上の末端キャップを含む。このコアは、親水性ポリマーまたはオリゴマーであり；各伸長部分は生分解性オリゴマーであり；そして各末端キャップはマクロマーを架橋し得るオリゴマー、ダイマーまたはモノマーである。特に好ましい実施態様において、このコアは、約400Daと30,000Daとの間の分子量の親水性ポリ（エチレングリコール）オリゴマーを含む；各伸長部分は、約200Daと1200Daとの間の分子量の生分解性ポリ（ α -ヒドロキシ酸）オリゴマーを含む；そして各末端キャップは、コポリマー間で架橋し得、かつ重合し得る約50Daと200Daとの間の分子量のアクリレート型モノマーまたはオリゴマー（すなわち、炭素-炭素二重結合を含む）を含む。より詳細には、好ましい実施態様は、分子量約10,000Daのポリ（エチレングリコール）オリゴマーからなるコア；分子量約250Daのポリ（グリコール酸）オリゴマーからなる伸長部分；および約100Daの分子量のアクリレート部分からなる末端キャップを組み込む。

【0017】

（架橋可能な物質および基）

Hubbellらの米国特許第5,410,016号は、組織への生分解性マクロマーの付与、続いて、ゲルを形成するための光重合について記載する。Hubbellらによって記載される光重合可能なゲルに加えて、ゲルは、Dunnらの米国特許第4,938,763号、Cohnらの米国特許第5,100,992号および同第4,826,945号、DeLucaらの米国特許第4,741,872号および同第5,160,745号、Suggsらの5,527,864号、Nowinskiらの米国特許第4,511,478号およびDom

bらの米国特許第4, 888, 413号に記載される。この物質は、これらの公報に記載され、これは、フリーラジカル開始重合によって共有結合で架橋し、本明細書中に記載されるような使用のための好ましい物質である。しかし、他のメカニズムによって架橋する（例えば、ポリイソシアネートとポリアミンとの反応によって）、または低分子量反応性モノマーを含む物質はまた、それらが生体適合性でありかつ非毒性である場合、適切であり得る。このマクロモノマー（「マクロマー」）は、架橋性でありヒドロゲルを形成し、これは、ブロックコポリマーを含み得る。このマクロマーは、水溶液から急速に架橋され得る。このマクロマーは、有利にも、熱可逆性ゲル化によって架橋され得、そして溶液状態から、ゲル状態から、または固体状態から架橋され得る。

【0018】

モノマーまたはマクロマーは、好ましくは、水溶液中で共有結合を形成し得る架橋可能基を含む。これらの架橋可能基により、マクロマーは架橋し、ゲルを形成し得る。このマクロマーはまた、主なゲル化メカニズムとして、または共有結合の架橋に加えて、熱可逆的相互作用またはイオン相互作用によってゲル化し得る。ゲル形成の全てのこのような方法は、より狭く特定されない限り、本明細書中で「架橋」といわれる。当該分野では公知の化学的またはイオンの架橋可能基が、マクロマーに提供され得、架橋力を提供する。1つの好ましい実施態様における架橋可能基は、フリーラジカル生成による光開始によって、最も好ましくは可視光線または長波長の紫外線の照射によって、重合され得る。好ましい架橋可能基は、不飽和基、特に炭化水素不飽和基（ビニル基、アリル基、シンナメート、アクリレート、ジアクリレート、オリゴアクリレート、メタクリレート、ジメタクリレート、オリゴメタクリレート、メタクリルアミド、ヒドロキシエチルメタクリレートを含むアクリル性エステル、および他の生物学的に受容可能な光重合可能基を含むが、これらに限定されない）である。これらの基はまた、化学的もしくは熱的手段、または化学的、熱的および光開始手段の任意の組み合わせによって架橋され得る。

【0019】

使用され得る他の架橋化学物質は、例えば、アミンもしくはアルコールとイソ

シアネートもしくはイソチオシアネート、またはアミンもしくはチオールとアルデヒド、エポキシド、オキシランもしくは環式イミンとの反応を含む。アミンもしくはチオール、または他の反応物、または両方のいずれも、マクロマーに共有結合され得る。モノマーの混合物からのコポリマーもまた、考えられる。スルホン酸またはカルボン酸基はまた、モノマーに含まれ得る。

【0020】

好ましくは、マクロマーの少なくとも一部は、架橋剤である。すなわち、マクロマーの少なくとも一部は、1つより多い架橋可能反応基を有し、これにより、重合したマクロマーの架橋を確実にすることによって、凝集性ヒドロゲルの形成を可能にする。マクロマーの100%までが1つより多い反応基を有し得る。代表的には、合成において、このパーセンテージは50~95%、例えば、60~80%のオーダーである。このパーセンテージは、1つのみの活性基を含有するコモノマーを添加することによって低下し得る。架橋剤の濃度の下限は、特定のマクロマーの特性および全マクロマー濃度に依存するが、反応性基の全モル濃度の少なくとも約2%である。より好ましくは、架橋剤の濃度は少なくとも10%であるが、30%~90%のような高い濃度の方が、多くの薬剤の拡散を最大限に遅延させる場合には最適である。必要に応じて、架橋機能の少なくとも一部は、低分子量の架橋剤によって提供され得る。

【0021】

反応性基が、一つの他の基（例えば、イソシアネート）のみと反応する反応性基である場合、少なくとも幾つか（例えば、反応性分子の少なくとも約1%、好ましくは2%またはそれ以上、より代表的には、5%またはそれ以上、および必要に応じて100%までが、架橋を提供するために、3つまたはそれ以上の反応性基を含まなければならない。幾つかの化学物質（例えば、一級アミンと反応するエポキシド）において、1基は、モノ反応性（この例では、エポキシド）であり、そして他は、多官能性（この場合、アミン、これは少なくとも2つのエポキシドと反応し得る）である。このような反応において、必要とされる量の架橋剤が、最小必要量の幾つかのトリエポキシドまたは幾つかの二量体の一級アミンと共に、供給され得る数種の方法が存在する。

【0022】

送達される止血剤または他の生物学的活性剤が巨大分子である場合、より高い範囲の多機能マクロマー（すなわち、1つより多い反応性基を有する）が好ましい。ほとんどの適用において好適であるようにゲルが生分解性である場合、分子内の架橋する反応性基は、生分解性連結によって互いから分離されるべきである。分解性ポリマーブロックのような、インビボの条件下において生分解性であるとして知られている連結のいずれもが適切であり得る。化学開始剤および／または光活性開始剤を用いたフリーラジカル重合によって架橋される、炭化水素不飽和基の使用は、架橋可能基として好ましい。

【0023】

マクロマーはまた、マクロマーに共有結合されるイオンの荷電した部分を含み得る。これにより、必要に応じて、マクロマーのゲル化またはイオン架橋が可能となる。

【0024】

(親水性領域)

当該分野において利用可能な水溶性の親水性オリゴマーは、生分解性マクロマーに組み込まれ得る。この親水性領域は、例えば、ポリ（エチレングリコール）（もしくは同義のポリ（エチレンオキシド）またはポリオキシエチレン）、ポリ（プロピレングリコール）、ポリ（ビニルアルコール）、ポリ（ビニルピロリドン）、ポリ（エチルオキサゾリン）、または多糖類のポリマーブロック、あるいは炭水化物（ヒアルロン酸、デキストラン、ヘパリン硫酸、コンドロイチン硫酸、ヘパリン、アルギン酸を含む）、ポリペプチド（ゼラチン、コラーゲン、アルブミン、オボアルブミンを含む）、および合成ポリアミノ酸であり得る。

【0025】

(生分解性領域)

当該分野で利用可能な生分解性結合または分子由来のポリマーもしくはコポリマーセグメントは、マクロマーに組み込み得る。生分解性領域は、好ましくは、インビボの条件下で加水分解され得る。いくつかの実施態様では、異なる特性（例えば、生分解性および疎水性または親水性）が、マクロマーの同じ領域内に存

在し得る。

【0026】

有用な加水分解性基として、グリコリド、ラクチド、 ϵ -カプロラクトン、および他のヒドロキシ酸のポリマーおよびオリゴマー、ならびに体内において非毒性であるか、または正常な代謝産物として存在する材料を生成する、他の生分解性ポリマーが挙げられる。好ましいポリ(α -ヒドロキシ酸)は、ポリ(グリコール酸)、ポリ(DL-乳酸)およびポリ(L-乳酸)である。他の有用な物質として、ポリアミノ酸、ポリカーボネート(特に、ポリ(トリメチレンカーボネート)を含むアルキルポリカーボネート)、ポリジオキサノン、ポリ(無水物)、ポリ(オルトエステル)、ポリ(ホスファジン)およびポリ(ホスホエステル)が挙げられる。ポリ(ϵ -カプロラクトン)、ポリ(δ -カプロラクトン)、ポリ(δ -バレロラクトン)、およびポリ(γ -ブチロラクトン)のようなポリラクトンもまた有用である。これらの分解性結合基の混合物が使用され得る。生分解性領域は、1つから実質的に非水溶性の生成物を生成し得る値までの範囲の重合度を有し得る。従って、モノマー、ダイマー、トリマー、オリゴマー、およびポリマー領域がこのマクロマーに含まれ得る。

【0027】

生分解性領域は、生分解され易い結合(例えば、エステル、アミド、ペプチド、カーボネート、ウレア、無水物、オルトエステル、ホスファジン、およびホスホエステル結合)を用いるポリマーまたはモノマーから構築され得る。ポリマーが分解するのに必要な時間は、適切なモノマーを選択することによって調整され得る。結晶性の違いもまた分解速度を変化させる。比較的結晶性または疎水性のポリマーでは、実際の質量損失は、細分化によって起こり得るか、またはオリゴマーフラグメントが水溶性であるほど十分に小さい場合、開始され得る。従って、初期のポリマーの分子量および構造が分解速度に影響を与える。

【0028】

(光開始剤および/または触媒)

有用な光開始剤は、細胞毒性が無くかつ短時間(多くとも数分、最も好ましくは数秒)で、マクロマー(macro mer)のフリーラジカル生成重合で開始

するために使用され得るものである。LWUV開始に選択する開始剤として好適な染料は、エチルエオシン、2, 2-ジメトキシ-2-フェニルアセトフェノン、他のアセトフェノン誘導体およびカンファーキノンである。すべての場合において、架橋および重合が、光活性化フリーラジカル重合開始剤（例えば、2, 2-ジメトキシ-2-フェニルアセトフェノンまたはエチルエオシンおよびトリエタノールアミンとの組み合わせ）によって、コポリマー間で開始される。

【0029】

光開始剤の選択は、光重合可能領域に大きく依存する。例えば、マクロマーが少なくとも1つの炭素-炭素二重結合を含む場合、染料による光吸収は、三重項状態と思われる染料が原因であり、この三重項状態は引き続いてアミンと反応してフリーラジカルを形成し、これは重合を開始する。これらの材料とともに使用するのに好適な染料には、エオシン染料および開始剤（例えば、2, 2-ジメチル-2-フェニルアセトフェノン、2-メトキシ-2-フェニルアセトフェノンおよびカンファーキノン）が挙げられる。このような開始剤を使用して、コポリマーが、例えば長波長紫外光または約514 nmのレーザ光で、インサイチュで重合され得る。

【0030】

重合の開始は、約200～700 nmの間、最も好ましくは長波長紫外光範囲または可視範囲（320 nmまたはそれより大きい）、最も好ましくは約514 nmまたは365 nmの波長の光を照射することによって達成され得る。

【0031】

（弾性特性および他の物理的特性）

好ましい材料は、好適な弾性特性および剛性特性を有し、これらは材料が付与される組織上で、材料がシール機能を維持することを可能にしている。本発明の材料を含有する止血剤は、特定の適用でシーラントとして、それらの機能を役に立たせることを必要とするような場合を除いて、特定の弾性特性を有することを必要としない。本明細書中に記載されるように、機械的特性が適切な手段で測定される。

【0032】

(止血剤)

以下に列挙される材料は、治療行為において止血剤として公知である。組織シラントヒドロゲルをより止血するようにするため、止血物質がヒドロゲルに組み込まれる。止血剤は、同種相混合物または異種相混合物のいずれかと組み合わせられ得る。この薬剤は、架橋可能なヒドロゲルの溶液に単に混合され得、同時にヒドロゲルの形成時にヒドロゲルによって、物理的に保持される。あるいは、止血剤は共有結合またはイオン結合として組み込まれ得、微粒子の形態で組み込まれ得、持続した放出または改善された組み込みのために分子に共有結合で付着すること（例えば、ポリエチレングリコールのヒドロキシ酸結合体との反応によるものとして）、または他の手段によって組み込まれ得る。

【0033】

この止血剤は、ヒドロゲルを付与および形成するのに使用されるプロセスと独立して、またはそれと関連して作用し得る。例えば、鉄塩（これは、これは有効な止血剤となる）は、架橋の開始に関与するさらなる目的に役立ち得る。

【0034】

ヒドロゲルの止血性能は、有効な前処理と即時のまたは非常に速い比較的高強度のヒドロゲル固体の形成との組み合わせの使用によって、高いレベルを達成し得る。引き続き架橋の誘発は、必要とされてもされなくてもよい。止血物質としてのヒドロゲルのさらなる有効性は、血液を吸収し固定化するその能力から、あるいは組織の表面で接着バリアの形成から生じ得て、組織からの液体の流動または流出を防止する。

【0035】

以下に列挙される止血物質に加えて、他の物質（例えば、別々にまたはヒドロゲルへの結合体として作用している第四級アンモニウム化合物、アミンまたはポリアミン）が作用して、有効な止血を提供し得る。列挙された材料の組み合わせは、さらに他の活性物質があろうが無かろうが可能である。

【0036】

止血剤は、任意のいくつかのクラスの化合物であり得る。止血物質がタンパク質または他のポリペプチドである場合、この止血剤は、天然物質から誘導され得

、あるいは組換えDNA技術によって生成された材料、すなわち天然タンパク質の変異体であり得、またはタンパク質の化学修飾によって生成された材料であり得る。止血物質の組み合わせが、本発明において考えられている。以下に列挙した止血剤のクラス、および各クラスの特定の例は、制限ではなく例示として解釈されるべきである。

【0037】

例えば、止血物質は、天然の凝固経路のメンバーである（「凝固因子」）。このようなタンパク質には、とりわけ組織因子、第VII因子、第VII因子、第IX因子および第XII因子、フィブリンおよびフィブリノーゲンが挙げられる。

【0038】

止血剤はまた、天然の凝固の経路を活性化するかまたは触媒するタンパク質または他の化合物でもあり得る（「凝固活性化物質」）。これらには、トロンビン、トロンボプラスチン、カルシウム（例えば、グルクロン酸カルシウム）、ビスマス化合物（例えば、次没食子酸ビスマス）、コラーゲン、デスマプレシンおよびアナログ、変性コラーゲン（ゼラチン）、ならびにフィブロンectinが含まれる。ビタミンKは、凝固の活性化に寄与し得る。

【0039】

止血物質は、血小板の活性化、凝集または刺激で作用し得る（「血小板活性化物質」）。これらには、シクロヘキシミド、N-モノメチル-L-アルギニン、心房性ナトリウム利尿因子（ANF）、小ヌクレオチド（cAMP、cGMPおよびADPを含む）、プロスタグランジン、トロンボキサン、およびそれらのアナログ（例えば、UpjohnのU4-6619）、血小板活性化因子、ホルボールおよびホルボールエステル、エタンシレート、ならびにヘモグロビンが含まれる。非吸収性粉体（例えば、タルク、および変性したまたは表面吸収したタンパク質）もまた血小板を活性化し得る。

【0040】

止血物質は、局所的血管狭窄で作用し得る（「血管収縮薬」）。例として、エピネフリン（アドレナリン）、アドレノクロム、テトラヒドロソリン、アンチヒ

スタミン（アンタゾリンを含む）、オキシメタゾリン、パゾプレシンおよびそのアナログ、ならびにコカインが挙げられる。

【0041】

止血物質は、凝固反応の破壊または不活性化を防止することで作用し得る（「フィブリン溶解インヒビター」）。例として、好酸球主塩基タンパク質（eosinophil major basic protein）、アミノカブロン酸、トラネキサム酸、アプロチニン（TrasyloTM）、プラスミノゲン活性化物質インヒビター、プラスミンインヒビター、 α -2-マクログロブリン、およびアドレナリン受容体ブロッカーが挙げられる。

【0042】

止血物質は、形成されると血餅を強化する（「架橋剤」）。例として、エンタクチン、トランスグルタミナーゼ、および化学架橋剤が挙げられる。

【0043】

止血物質は、非タンパク質ポリマー（これは、タンパク質との相互作用、タンポン充填、または他の機構による局所的な粘性（viscosify）またはゲル血液または血漿に作用する）を含み得る（「ポリマー性止血物質」）。例として、酸化したセルロース、「Vicryl」および他のポリヒドロキシ酸、マイクロフィブリルのコラーゲン、架橋したコラーゲン、コラーゲンスポンジ、キトサン、アルギナート、ポリアクリル酸、ペントサンポリスルフェート、カラギーナン、およびポリオルトエステル（例えば、AlzamerTM）が挙げられる。

【0044】

止血物質は、自然の凝固機構には直接は関連しない機械的手段により、血液の漏出に対してバリアを形成する材料であり得る（「バリア形成体（barrier former）」）。これらには、コラーゲン、変性コラーゲン、酸化したセルロース、イオン結合または水素結合で架橋した天然および合成ポリマー（これにはキチン、キトサン、アルギナート、ペクチン、カルボキシメチルセルロース、およびPluronicTM界面活性剤のようなボロキサマー（poloxamer）を含む）が挙げられる。

【0045】

抗凝固性の患者において、抗凝固剤に対して反対にまたは解毒剤として作用する薬剤は、止血物質として有用である（「凝固修復物質（coagulation restorer）」）。これらには、プロタミンおよびヘパリナーゼが含まれる。

【0046】

これらのうち、好ましい物質には、エピネフリン、アドレノクロム、コラーゲンおよび誘導体、トロンビン、フィブリン、フィブリノーゲン、酸化したセルロースおよびキトサンが挙げられる。

【0047】

本発明の目的で、有効量の止血剤は、医学的に受容可能な時間内での処置のために、意図とした表面のタイプからの出血を止めるのに十分な量である。外科手術処置の後の閉鎖という面において、20分またはそれより短い時間を受け入れることができる；より短い時間が好ましく、これは10分またはこれより短く、5分またはこれより短く、2分またはこれより短く、そして最も好ましくは、1分より短い。

【0048】

止血物質の適切な濃度の最終的な試験は、インビボで測定される。インビトロ試験もまた使用され（例えば、医学文献に報告されるもの）、適切な濃度範囲を決定している。インビトロ試験は、実施例1に記載のように、例えば、シーラントゲルを含有する調製した止血物質の試験サンプルによる新鮮な血液の液滴の凝固を誘発する時間を決定することを包含し得る。好適なインビトロ試験は、シーラント組成物を含有する止血物質を標準的な創傷（例えば、麻酔をしたラットの剃毛した背中に経皮的に穿孔した標準的な十分な厚さの創傷）に付与する際の、止血を達成する時間である。他の外科的創傷（例えば、脾臓、肝臓、血管などの創傷）から血流を止める時間もまた適切であり得る。そのような手順の適用によって、止血剤の適合性および適切な濃度が、過度の実験をせずに決定され得る。

【0049】

（組成物の作製方法）

架橋物質の作製方法は先行技術の参考文献中に開示される。例えば、ポリ（エ

チレングリコール)のコア;ポリ(グリコール酸)の伸張;およびアクリレート部分の末端キャップを有するマクロマーの作製方法が米国特許第5,410,016号に記載される。

【0050】

止血剤は、物理的にまたは化学的に架橋物質と組み合わせられ得る。好ましい実施態様において、架橋可能な物質は溶液中に存在し、そして止血剤はこの溶液と混合され得る。

【0051】

(組成物の使用方法)

止血シーラントは、有効である任意の従来的な様式で付与され得る。付与の様式は使用されるシーラントの特性に依存する。好ましい実施態様において、この止血剤はシーラント組成物中、またはその1つの成分中に混合され、そしてこのシーラント物質は、このようなシーラントにおける通常の様式で付与される。このシーラントは液体であり得るか、または付与前の組織コーティング中に部分的もしくは完全に予備形成され得る。

【0052】

止血物質を用いるかまたは用いない流体シーラントの付与は、任意の従来的な手段によってなされ得る。これらには、流体の組織表面に対する滴下、ブラッシング (brushing) または他の直接操作ならびに流体シーラントのその表面上への噴霧が挙げられる。さらなる架橋がこの表面で生じるべきである場合、このような手段によって半固体物質が誘導され得る。組織および手術手順のタイプに適切な固体物質が従来方法によって付与される。手術が開放性である場合、手または鉗子などによる付与が意図される。内視鏡手術において、物質はトロカールのカニユーレを介して送達され、そして当該分野において公知の任意の種々のデバイスによりこの部位に広げられる。あるいは、この止血剤は直接的に組織に付与され、次いでこのシーラント物質は止血物質の上に付与され得る。このシーラントが部分的にまたは十分に予備調製されている場合、次いで、止血物質がシーラントへと付与され、次いで複合物質が上記のような組織へと付与される。

【0053】

1つの実施態様において、1つまたはそれ以上の開始剤または開始システムの成分がプライマーとして表面に直接的に付与され、そして吸収されない過剰物は、必要に応じて洗浄またはブロッティングにより除去される。この開始溶液は1つまたはそれ以上の重合可能モノマーおよび他の有用な処方成分（これは加速因子、共開始剤、感光剤およびモノマーを包含する）をさらに含み得る。次いで、1つまたはそれ以上の開始剤または開始システムの成分と組み合わせて、架橋可能なマクロマーを含む液体（これは第1の工程で吸収されたものと同一であるかもしれない）が付与される。自己重合しない場合、このシステムは、次いで、重合するために刺激される（例えば、適切な波長光の付与による）。

【0054】

ブライミングおよびマクロマー付与工程もまた、組み合わせられ得る。例えば、モノマーの添加前に過剰の開始剤が除去されない場合、次いでマクロマーの引き続く付与により開始剤のモノマー層への混合が生じる。同様に、マクロマー層が表面に高い親和性を有する開始剤を含有する場合、次いで、開始剤を含有するマクロマー層への付与が可能となり、そして適切な時間待機することにより、同様の効果を達成するための、開始剤の表面への優先的な吸収が可能になる。

【0055】

本発明は以下の非限定的な実施例によりさらに説明される。

【0056】

（実施例1．シーラントと止血剤との組合せを用いての止血の実証）

ウサギ血液、止血物質、およびゲル形成マクロマーとの間の相互作用を実証した。この相互作用は、促進凝固時間（Accelerated Clotting Time）（ACT）の測定、標準的臨床試験および周知の臨床試験によって実証した。この試験において、凝固促進因子（例えば、珪藻土（DE））の標準量が試験管内に配置され、そしてその存在下で血液が凝固するために必要とされる時間を測定する。ACTは標準化された市販のシステムを用いて決定した（Hemochron ACT Meter Model 801およびチューブ FTCA510；International Technidyne Cor

p., Edison NJより)。

【0057】

第1の実験のセットにおいて、図1に示されるように、採血したばかりのウサギ血液を、通常の生理食塩水または光重合可能マクロマー物質のいずれかと混合した。このマクロマーはポリエチレングリコールコアを含有し、アクリレート基で終結した各末端上に短いポリ乳酸ブロックを有する。これは、ヒトでの使用に適切な形態での、塩、緩衝液、および他の賦形剤を含有する水溶液の形態で添加された。血液の生理食塩水での希釈は凝固時間を有意には変更しないが、マクロマー溶液を用いての希釈は凝固を遅延したことが見出され、このことはこの物質の固有の抗凝固効果を示唆した。

【0058】

第2の実験のセットにおいて(この結果は図2に示す)、生理食塩水(コントロール)で、またはマクロマー溶液で希釈したウサギ血液の凝固時間に対する公知の止血剤の効果を、ACT試験によって測定されるように、決定した。同一のマクロマーを使用した。左側の3本の棒はコントロールである。生理食塩水のコントロールにおいて、1%のトロンビンはACTにおける凝固速度を非常に促進したが、フィブリノーゲン単独またはカルシウム単独では有意な効果は有さないことが見出された。トロンビンもまた、血液を含有するマクロマーにおける凝固速度を非常に促進すると同時に、カルシウムおよびフィブリノーゲンのさらなる添加が凝固をさらに促進することが見出された。

【0059】

コントロールと比較すると、ヒドロゲルシーラント物質それ自体は凝固を阻害したが、止血剤のトロンビン、カルシウム、およびフィブリノーゲンと組み合わせた場合に凝固を可能にした。シーラント/止血物質の効用はシーラントとして働くその能力であり、これは損傷部位での止血を提供するためのその能力と組み合わせられて、それ自体の上で血流を遅延することを補助する。さらに、このヒドロゲルのシーラント能力は改善されるはずである。なぜならば、処置されるべき表面からの出血の加速された凝固は、シーラントの組織表面に対する接着性を改善するはずであるからである。

【図面の簡単な説明】

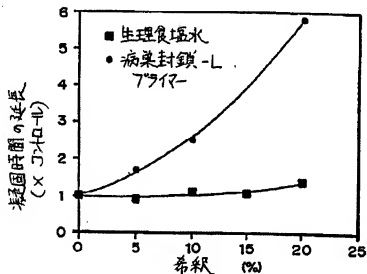
【図1】

図1は、血液を凝固するのに必要な時間に対する、ウサギ血液の希釈の効果を示すグラフである。上方の曲線はゲル形成マクロマーでの希釈を示し、下方の曲線は生理食塩水コントロールでの希釈を示す。

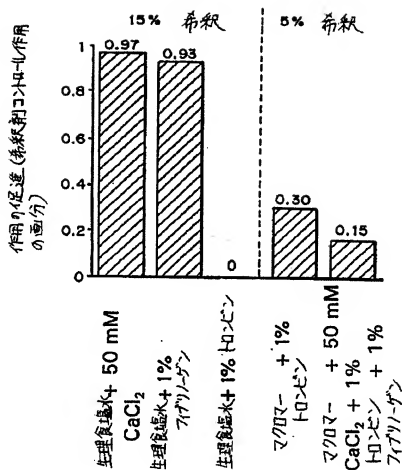
【図2】

図2は、生理食塩水で希釈した血液およびゲル形成剤で希釈された血液の凝固時間に対する、様々な試薬の添加の効果を示すグラフである。

【図1】



【図2】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

vs. national Application No.
PCT/US 98/16410

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 A61L25/00 C08G85/00 C08G65/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 6 A61L C08G

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data bases consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Character of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 95 00184 A (CARRINGTON LAB INC) 5 January 1995 see abstract see page 27, line 1 - line 14	1
Y	WO 96 11671 A (FOCAL INC) 25 April 1996 see page 11, line 20 - line 37; claims 10, 11	1
Y	US 5 410 016 A (HUBBELL JEFFREY A ET AL) 25 April 1995 cited in the application see claims 1-23	1
A	WO 96 41818 A (DROHAN WILLIAM N; MACPHEE MARTIN J (US); MIEKKA SHIRLEY I (US); SI) 27 December 1996 see page 50, line 9 - line 14	

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document relating the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"B" earlier document but published on or after the international filing date

"C" document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the public availability of a matter claimed or other special reason (see specification)

"D" document relating to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"E" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"F" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principles or theory underlying the invention

"G" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"H" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is considered with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"I" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

23 November 1998

Date of mailing of the international search report

30/11/1998

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P. B. 5018 Patenkamp 8
NL - 2009 HV Almere
Tel. (+31-70) 340-2000 Fax. (+31-70) 340-2018
Frac (+31-70) 340-2018

Authorized officer

Stenon, P

Form PCT/ISA(11) (current date) July 1997

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.
PCT/US 98/16410

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9500184 A	05-01-1900	US 5409703 A	25-04-1995
		AU 7115394 A	17-01-1995
		CA 2164624 A	05-01-1995
		CN 1127474 A	24-07-1996
		EP 0705113 A	10-04-1996
		JP 0511964 T	17-12-1996
WO 9611671 A	25-04-1900	AU 3972095 A	06-05-1996
		CA 2202511 A	25-04-1996
		EP 0785774 A	30-07-1997
		JP 10509696 T	22-09-1998
US 5410016 A	25-04-1995	US 5380536 A	10-01-1995
		US 5468505 A	21-11-1995
		US 5626863 A	06-05-1997
		US 5567435 A	22-10-1996
		AU 673160 B	31-10-1996
		AU 683209 B	06-11-1997
		AU 3780993 A	13-09-1993
		BR 9306038 A	13-01-1998
		BR 9306041 A	18-11-1997
		CA 2117584 A	02-09-1993
		CA 2117588 A	16-09-1993
		EP 0627911 A	14-12-1994
		EP 0627912 A	14-12-1994
		JP 7506961 T	03-08-1995
		JP 7507056 T	03-08-1995
		NZ 249770 A	25-09-1996
		NZ 251039 A	26-03-1996
		WO 9317669 A	16-09-1993
		WO 9316687 A	02-09-1993
		US 5801033 A	01-09-1998
		US 5529914 A	25-06-1996
		AT 154242 T	15-06-1997
		AU 8755791 A	20-05-1992
		DE 69126535 D	17-07-1997
		DE 69126535 T	25-09-1997
		EP 0553195 A	04-08-1993
		ES 2104727 T	16-10-1997
		WO 9206676 A	30-04-1992
		US 5462990 A	31-10-1995
		US 5620882 A	13-10-1998
		US 5627233 A	06-06-1997
		US 5567440 A	22-10-1996
		US 5232984 A	03-08-1995
WO 9641818 A	27-12-1900	CA 2224253 A	27-12-1996
		EP 0830381 A	25-03-1998

Form PCT/ISAR/95 (patent family search) (July 1995)

フロントページの続き

(71)出願人 4 Maguire Road, Lexington, Massachusetts
02173 United States
of America

(72)発明者 ソウニー, アマーブリート エス.
アメリカ合衆国 マサチューセッツ
01730, ベッドフォード, スプリング
ス ロード 164

(72)発明者 ヒューベル, ジェフリー エイ.
スイス国 シーエイチ-8126 ズミコン,
アンテルドルフシュトラッセ 22

(72)発明者 フィルブロック, シー. マイケル
アメリカ合衆国 マサチューセッツ
02116, ボストン, マールボロ スト
リート ナンバー301 199

Fターム(参考) 4C081 AC03 AC04 AC06 AC10 BA11
BA16 BB01 CA052 CA062
CA082 CA171 CA181 CA182
CC01 CC02 CC04 CC06 CC06
CD012 CD022 CD042 CD052
CD062 CD072 CD082 CD092
CD112 CD122 CD132 CD142
CD172 CD18 CD23 CE03
DA12 DC12 EA02 EA05
4J005 AA04 BD00
4J031 CA06 CA83 CA85 CA89 CD09
CD13 CD22 CD25 CD27